UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1944 - 1945 — N° 327

RECHERCHES

SUR LES

ESTERS PHOSPHORIQUES

DU SANG HUMAIN

A L'ÉTAT NORMAL ET PATHOLOGIQUE

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

MENTION « PHARMACIE »

Présentée et soutenue publiquement le Vendredi 28 Février 1945

PAR

ROBERT COUHÉ

PHARMACIEN

NÉ A LOULAY (CHARENTE-MARITIME), LE 3 AVRIL 1907

Examinateurs de la Thèse

MM. MACHEBŒUF, professeur.. *Président*

LABAT, professeur..... ..

CHELLE, professeur..... *Juges*

CASTAGNOU, professeur....

SENS

IMPRIMERIE BRIDET & Cie

52, GRANDE-RUE, 52

1945

COUHÉ (Robert)

Recherches sur les Esters phosphoriques du sang humain à l'état normal et pathologique. — Sens, imp. Bridet et Cie, 1945. In-8°, 80 p., fig.

(Doct. Univ. Pharm. Bordeaux. 1944-1945. N° 327).

COUHÉ (Robert)

Recherches sur les Esters phosphoriques du sang humain à l'état normal et pathologique. — Sens, imp. Bridet et Cie, 1945. In-8°, 80 p., fig.

(Doct. Univ. Pharm. Bordeaux. 1944-1945. N° 327).

COUHÉ (Robert)

Recherches sur les Esters phosphoriques du sang humain à l'état normal et pathologique. — Sens, imp. Bridet et Cie, 1945. In-8°, 80 p., fig.

(Doct. Univ. Pharm. Bordeaux. 1944-1945. N° 327).

COUHÉ (Robert)

Recherches sur les Esters phosphoriques du sang humain à l'état normal et pathologique. — Sens, imp. Bridet et Cie, 1945. In-8°, 80 p., fig.

(Doct. Univ. Pharm. Bordeaux. 1944-1945. N° 327).

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1944 - 1945 — N° 327

RECHERCHES

SUR LES

ESTERS PHOSPHORIQUES

DU SANG HUMAIN

A L'ÉTAT NORMAL ET PATHOLOGIQUE

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

MENTION « PHARMACIE »

Présentée et soutenue publiquement le Vendredi 23 Février 1945

PAR

ROBERT COUHÉ

PHARMACIEN

NÉ A LOULAY (CHARENTE-MARITIME), LE 3 AVRIL 1907

Examinateurs de la Thèse

MM. MACHEBŒUF, professeur.. — *Président*

LABAT, professeur..... — *Juges*

CHELLE, professeur..... — *Juges*

CASTAGNOU, professeur.... — *Juges*

SENS

IMPRIMERIE BRIDET & Cie

52, GRANDE-RUE, 52

1945

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN : M. DUPÉRIÉ — ASSESSEUR : M. LABAT

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. DENIGÈS, BEILLE, DUPOUY, A. MANDOUL, PETGES, GUYOT
ABADIE, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGER, CARLES

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	N... / DUPÉRIÉ
Clinique chirurgicale et gynécologique	JEANNENEY
Clinique chirurgicale	PAPIN
Pathologie et Thérapeutique générales	N...
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY
Anatomie	VILLEMIN
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL
Hygiène	LEURET
Médecine légale et déontologie	DERVILLÉE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	RÉCHOU
Chimie	CHELLE
Botanique et mat. médicale	GOLSE
Pharmacie	VITTE
Zoologie et parasitologie	SIGALAS
Médecine expérimentale	N...
Physiologie	FABRE

	MM.
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	LOUBAT
Clinique des maladies infectieuses	DAMADE
Chimie biologique et médicale	MACHEBŒUF
Physique médicale et pharmaceutique	N...
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphiltiques	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	N...
Toxicologie et hyg. appliquée	LABAT
Hydrologie thérapeutique et Climatologie	CREYX
Clinique odonto stomatologique	DUBECQ

MM. PERY (Obstétrique), PERRENS (Maladies mentales),
CHARRIER (Chirurgie générale), FAUGÈRES (Obstétrique)

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Anatomie	DUFOUR
Physiologie	FRANCK
Médecine générale	FIECHAUD, N..., N..., FONTAN, BROUSTET, N...
Chirurgie générale	SARIC, DUBARRY, N..., MASSÉ, N..., MAGENDIE, POUYANNE

	MM.
Obstétrique	N... / MAHON
Ophtalmologie	N...
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
Dermatologie et syphiligraphie	N...
Physique médicale	N...
Chimie générale pharmaceut. et toxicologie	CASTAGNOU
Histoire natur. pharmaceut.	GIRARD
Pharmacie	MESNARD / GRANGER
Histoire naturelle médicale et parasitologie	R. MANDOUL

COURS COMPLÉMENTAIRES

	MM.
Médecine opératoire	MASSÉ
Accouchements	MAHON
Puériculture	FAUGÈRES
Zoologie et parasitologie	R. MANDOUL
Médecine légale	N...
Urologie	N...
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI
Ophtalmologie	N...
Anatomie	J. BEAUVIEUX

	MM.
Chimie minérale	CASTAGNOU
Botanique	GIRARD
Cryptogamie	GIRARD
Pharmacie galénique	MESNARD
Bactériologie	MOUREAU
Physiologie	Mlle ROUGIER
Chimie biologique	TAYEAU
Parasitologie et biologie appliquées	PAUTRIZEL

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

R. UNIV
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

En témoignage d'affectueuse reconnaissance.

A MA FEMME

A MA FILLE

Avec toute mon affection.

A TOUS MES MAITRES

DE LA

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

DE BORDEAUX

(Années 1927-1931)

Dont nous avons suivi l'enseignement avec beaucoup d'intérêt.

Avec toute notre reconnaissance.

A NOTRE MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MACHEBŒUF

CHEF DE SERVICE A L'INSTITUT PASTEUR DE PARIS

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

DE BORDEAUX

DOCTEUR ÈS-SCIENCES

MEMBRE DU COMITÉ CONSULTATIF D'HYGIÈNE DE FRANCE

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

OFFICIER D'ACADÉMIE

Qui, après nous avoir si aimablement accueilli à son Laboratoire de Chimie biologique a dirigé et guidé nos recherches.

Qu'il veuille bien accepter nos remerciements et croire à la fidélité de toute notre reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LABAT

PROFESSEUR DE TOXICOLOGIE ET HYGIÈNE APPLIQUÉE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE BORDEAUX
PHARMACIEN EN CHEF DES HOPITAUX
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Qui nous a fait l'honneur de bien vouloir accepter la présidence de cette thèse.

A MES JUGES

Hommage respectueusement reconnaissant.

RECHERCHES
SUR LES ESTERS PHOSPHORIQUES
DU SANG HUMAIN
A L'ÉTAT NORMAL & PATHOLOGIQUE

INTRODUCTION

Le sang contient deux types de dérivés phosphorés :

1° *Le phosphore minéral* ou salin ou inorganique, formé par des ortho et des pyrophosphates.

2° *Le phosphore organique* qui, outre le phosphore lipidique, le phosphore protidique et le phosphore lié aux glucides, comprend un groupe d'esters phosphoriques, non précipitables avec les protides par l'acide trichloracétique et dont l'acide phosphorique n'est pas précipitable sans hydrolyse préalable par le réactif nitro- molybdique.

Certains de ces esters ont été mis en évidence. Ce sont :

A) L'acide diphospho-glycérique isolé en 1925 par I. GREENWALD [1] du sang du porc et retrouvé dans le sang humain et le sang de chien, puis un peu plus tard, en 1927, dans le sérum de cheval par M. MACHEBŒUF [2].

B) Les esters hexoses phosphoriques de EMBDEN, ISAAC, HIEL et MEYERHOFF.

Ce travail a pour but l'étude de ce groupe d'esters dans le sang humain.

Cette étude comprendra :

1° Etude de la méthode de dosage.

2° La recherche immédiate des esters dans le sang total, le sérum et le plasma. Ce dernier étant obtenu de différentes façons afin d'étudier l'influence des divers anticoagulants.

3° La recherche des variations de la teneur en esters de ces différentes parties du sang en fonction du temps et de la température.

4° La recherche des esters dans les globules non lavés ainsi que dans les globules lavés à l'eau salée physiologique pour savoir si, au cours de ces lavages, les esters diffusent hors des globules.

5° L'étude des variations pathologiques dans quelques cas précis.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE DE LA MÉTHODE DU DOSAGE

Pour tous les dosages nécessaires à la réalisation de notre travail, nous avons utilisé la technique de microdosage conseillé par Monsieur le Professeur Macheboeuf, auquel je dois le sujet de cette thèse.

Cette technique décrite par Monsieur Macheboeuf en 1926 et 1927 [3] est l'application au sang, à la suite de différentes modifications, de la technique de Madame M. Soerensen [4] pour le dosage de petites quantités de phosphore dans les coagulums d'albumine.

Cette méthode elle-même a été depuis lors modifiée par son auteur (sans que cela ait été l'objet d'une publication de sa part) en remplaçant les filtres d'amiante par des filtres en verre fritté de porosité 4.

C'est ce procédé de microdosage que nous allons décrire dans tous ses détails qui nous permettra, appliqué aux différentes parties du sang :

1° Le dosage du phosphore total acido-soluble.

2° Le dosage du phosphore salin.

La différence de ces deux dosages correspond au phosphore des esters phosphoriques.

Technique de la méthode

Nous envisagerons successivement l'application de cette technique :

a) Au sang total.
b) Au sérum et au plasma.
c) Aux globules.

A. — APPLICATION AU SANG TOTAL

Défécation trichloracétique

Mélanger aussitôt que possible après le prélèvement qui sera aseptique et pratiqué à jeun :

Sang (Mesurés avec une pipette à 2 traits)	5 cc.
Eau distillée	15 cc.

puis après agitation, ajouter :

Solution d'acide trichloracétique à 20 %	5 cc.

Mélanger et centrifuger.

Le liquide de centrifugation correspond au 1/5 de son volume de sang.

Faire deux parts égales de ce liquide :

— *L'une servira au dosage au phosphore total acido-soluble.*

— *L'autre servira au dosage du phosphore salin.*

Dosase du phosphore total acido-soluble

1° *Destruction sulfo-nitrique des matières organiques.*

Avec une pipette jaugée à deux traits, introduire dans un ballon microkjeldahl en pyrex :

Liquide de centrifugation	10 cc.
Acide sulfurique concentré pur	1 cc.

puis porter à une douce ébullition pour chasser l'eau. Le liquide brunit, puis, lorsque des fumées blanches commencent à se dégager (fumées d'anhydride sulfurique), on arrête et on laisse refroidir.

Après refroidissement, ajouter :

Acide nitrique fumant pur..... 2 cc.

puis porter de nouveau à une douce ébullition.

Après une dizaine de minutes, le liquide se décolore. Chauffer jusqu'à élimination de l'acide nitrique, ce qui se voit par l'apparition de fumées blanches et par disparition des vapeurs nitreuses.

Après refroidissement, on obtient un liquide de destruction le plus souvent incolore, rarement de teinte jaune très pâle.

2° *Précipitation du phosphore à l'état de phosphomolybdate d'ammonium.*

Après refroidissement complet du liquide obtenu par destruction sulfo-nitrique, ajouter dans le ballon :

Eau distillée ..... 10 cc.
Solution saturée de nitrate d'ammonium. 2 cc.

puis porter au bain-marie bouillant pendant *quinze minutes.*

Ce chauffage a pour but d'hydrolyser les pyrophosphates qui ont pu se former pendant le chauffage en milieu sulfurique.

Au bout de ce temps, ajouter :

Solution à 5% de molybdate d'ammonium préalablement chauffée au bain-marie.. 6 cc.

et remettre au bain-marie pendant *trois minutes exactement.*

Agiter deux ou trois fois pendant la première minute afin d'amorcer une bonne précipitation.

Sortir le ballon du bain-marie et refroidir sous un courant d'eau froide.

Toutes les concentrations indiquées ainsi que les temps de chauffe doivent être rigoureusement observés, car la bonne précipitation du phosphomolybdate d'ammonium dépend de ces exactitudes.

3° *Séparation du précipité de phosphomolybdate d'ammonium par filtration*

Complètement refroidi le contenu du ballon se présente ainsi :

Le précipité jaune formé est rassemblé au fond du ballon, une partie cependant surnage et a une tendance à grimper le long des parois.

L'appareillage utilisé comprend : *(voir dessin p. 14)*.

— Une fiole à vide A en relation avec la trompe à eau et sur laquelle est monté le creuset filtrant.

— Un creuset filtrant B en verre fritté de porosité 4.

— Un agitateur court C.

Verser doucement le contenu du ballon sur le filtre en s'aidant de l'agitateur qui favorisera l'écoulement du liquide le long de ses parois.

Régler la trompe à eau afin que la filtration se fasse lentement.

Faire alors un lavage des parois du ballon et de son contenu avec :

Alcool à 50°, neutre ..... 5 cc.

Cet alcool entraîne toute les particules du précipité

restées sur les parois du col du ballon et les rassemble au fond.

Laisser reposer.

Après repos, verser de nouveau le contenu du ballon sur le filtre en opérant comme il a été déjà dit.

Faire un nouveau lavage du ballon et du filtre avec 5 cc. d'alcool à 50° et ainsi de suite jusqu'à ce que les liquides alcooliques des lavages, examinés à la sortie du filtre, ne rougissent plus le papier bleu de tournesol.

Pour atteindre ce résultat, il faut environ 5 lavages.

Faire alors un dernier lavage du filtre en laissant couler l'alcool le long des parois afin que tout le précipité se trouve collecté dans le fond.

A ce moment, le précipité de phosphomolybdate est presque entièrement rassemblé sur le filtre. Il en reste cependant des traces dans le ballon.

Toutes ces opérations de filtration et de lavage doivent être conduites avec la plus grande minutie afin d'éviter la moindre perte de précipité.

4° *Dissolution du précipité de phosphomolybdate d'ammonium.*

Ajouter dans le ballon :

Ammoniaque pure diluée au 1/4..... 5 cc.

Faire doucement couler cette solution le long des parois du ballon en faisant tourner ce dernier entre les doigts afin que ce dissolvant imprègne toute la surface intérieure.

Laisser en contact quelques instants afin de dis-

soudre totalement les traces de phosphomolybdate restées dans le ballon.

Pendant ce temps, enlever le filtre et le monter sur une autre fiole à vide (ou sur la même après l'avoir soigneusement rincée à l'eau distillée).

Verser alors sur le filtre, en s'aidant toujours de l'agitateur, la solution ammoniacale contenue dans le ballon.

Il y a dissolution du précipité retenu sur le filtre.

S'assurer en inclinant l'appareil et avec l'aide de l'agitateur que toutes les parois du filtre ont été en contact avec cette solution.

Abandonner au repos quelques instants, puis ouvrir modérément la trompe à eau afin d'obtenir un passage très lent de l'ammoniaque et par suite une dissolution totale.

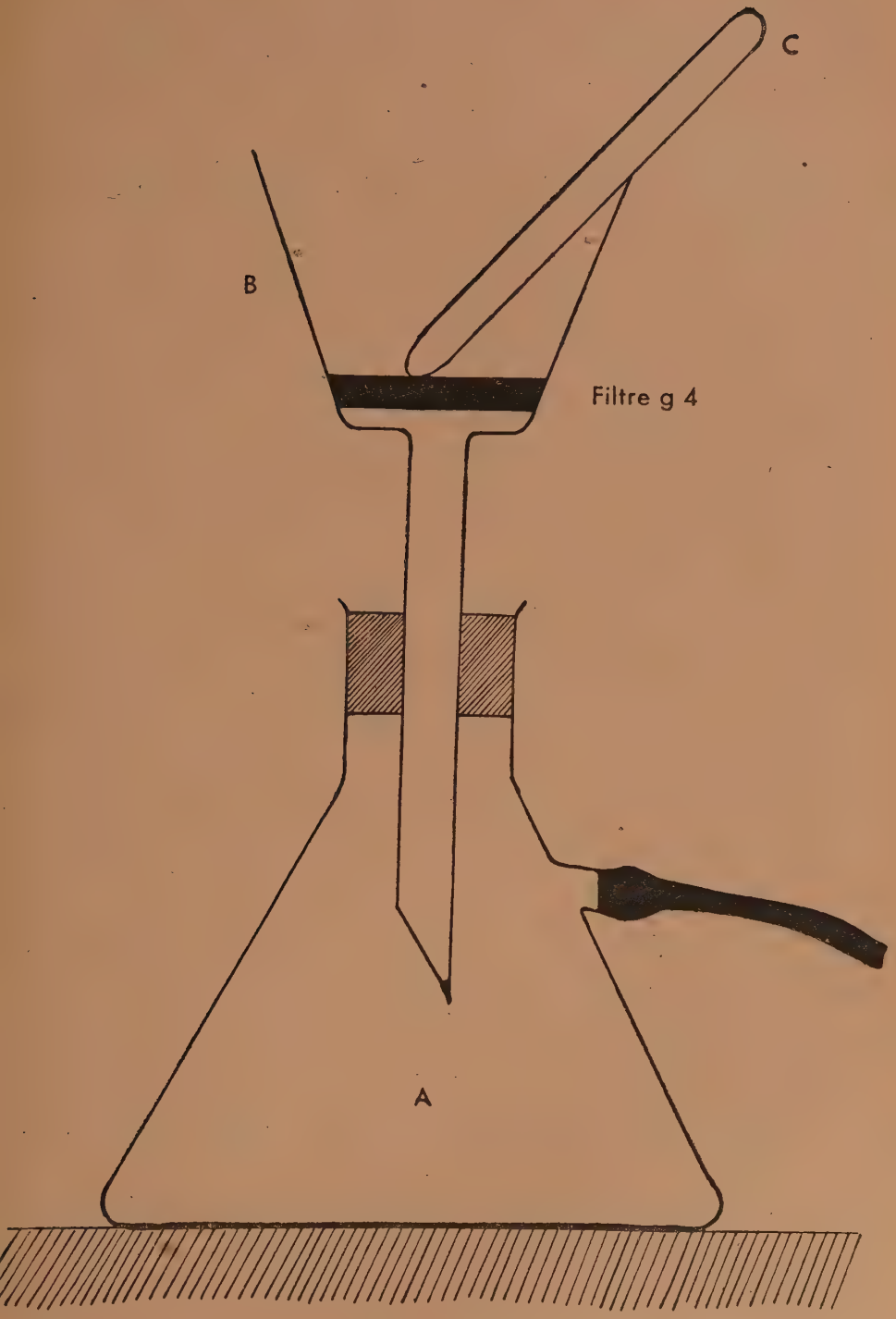
Tout le précipité est dissous et la solution obtenue se trouve recueillie dans la fiole conique.

Faire successivement deux à trois lavages du ballon et du filtre avec quelques centimètres cubes d'eau distillée en réunissant les liquides de ces lavages à la solution ammoniacale de phosphomolybdate d'ammonium contenue dans la fiole conique.

5. — *Titrage du phosphomolybdate d'ammonium*

La solution contenue dans la fiole conique est transvasée dans un ballon pyrex macrokjeldahl de 200 cc.

La fiole conique est rincée avec de l'eau distillée et les eaux de lavage versées aussi dans le ballon.



Dessin de l'appareil de filtration

Ajouter :

Solution de Soude N/20..... 10 cc.
Solution alcoolique de phenolphtaléine.. 3 à 4 gouttes.

et porter à l'ébullition après avoir mis quelques billes de verre.

L'ammoniac libre se dégage ainsi que l'ammoniac fixé à l'acide phosphomolybdique et que déplace la soude.

Après quinze à vingt minutes d'ébullition, tout l'ammoniac est chassé. S'en assurer par l'odeur des vapeurs. Le contenu du ballon doit être rouge.

Il reste à titrer l'excès de soude non combiné à l'acide phosphomolybdique.

Le titrage direct ne serait pas précis par suite de la présence de gaz carbonique.

Pour éviter cet inconvénient, verser :

Solution d'acide sulfurique N/20..... 10 cc.

Il y a décoloration.

Porter de nouveau à l'ébullition pendant cinq minutes pour chasser le gaz carbonique, puis titrer sans laisser refroidir l'excès d'acide sulfurique par de la soude N/20 jusqu'à coloration rose persistante.

Après l'apparition de ce premier virage, faire bouillir. Si cette coloration persiste, le virage est atteint ; dans le cas contraire, le compléter par addition d'une nouvelle quantité de soude.

Le nombre de centimètres cubes versés correspond à la soude combinée à l'acide phosphomolybdique.

En multipliant ce nombre de centimètres cubes par 0,056, on obtient le poids en milligrammes du phosphore contenu dans la prise d'essai.

Si on opère avec des solutions N/25, le coefficient est 0,0448.

Remarque. — Pour tous ces dosages, les pipettes utilisées doivent correspondre exactement.

Dosage du phosphore salin

Nous retrouvons les mêmes stades que dans le dosage du phosphore total acido-soluble, destruction sulfo-nitrique en moins.

1° *Précipitation du phosphore à l'état de phosphomolybdate d'ammonium.*

Dans un ballon de microkjeldahl, introduire :

Liquide de centrifugation obtenu après défécation trichloracétique.....	10 cc.
Acide sulfurique pur concentré	1 cc.
Solution saturée de nitrate d'ammonium..	2 cc.

Porter au bain-marie bouillant pendant *trente secondes* en agitant.

Ce chauffage très important a pour but d'amener la température au voisinage de 100° sans pourtant laisser s'hydrolyser les esters phosphoriques.

Ajouter :

Solution de molybdate d'ammonium à 5 %.....	6 cc.

et remettre au bain-marie bouillant pendant *trois minutes.* A partir de ce moment, les différentes phases de ce dosage :

2° *Séparation par filtration et lavage du précipité.*

3° *Dissolution du précipité.*

4° *Titrage du phosphomolybdate d'ammonium.*

sont très exactement les mêmes que précédemment.

B. — APPLICATION AU SÉRUM ET AU PLASMA

La technique de dosage des esters phosphoriques dans le sérum et le plasma est la suivante :

Prendre :

Sérum ou plasma,.....	12 cc.
Acide trichloracétique à 20 %.....	8 cc.

Mélanger, centrifuger et faire deux parts égales de 7 cc. du liquide clair de centrifugation.

Ces 7 cc. correspondent à 4 cc. 2 de sérum ou de plasma.

Ces deux parts sont ensuite traitées comme pour le sang total :

— L'une servira au dosage du phosphore total acido-soluble.

— L'autre servira au dosage du phosphore salin.

C. — APPLICATION AUX GLOBULES ROUGES

Pour doser les esters phosphoriques dans les globules rouges, il faut recueillir le sang en présence d'un anticoagulant tel que le citrate de soude (solution citratée à 5 %).

Remplir un tube à centrifuger avec du sang ainsi prélevé et noter sur le tube, à l'aide d'un trait de lime, le niveau auquel monte le sang.

Il est ainsi facile après centrifugation d'enlever le plasma et de dissoudre les globules dans un volume d'eau distillée égal au volume primitif.

Après dissolution totale et après agitation afin d'avoir un mélange homogène, prélever 5 cc. de cette solution globulaire.

Pour le dosage, on traitera les 5 cc. exactement comme 5 cc. de sang total.

Vérification diverses

Avant d'aborder les dosages, il faut vérifier les points suivants :

1° *Les différents réactifs en présence ne doivent pas apporter de phosphore.*

Cette vérification s'impose absolument et il faut s'assurer par un dosage à blanc que tous les réactifs utilisés n'apportent pas de phosphore.

C'est ainsi que nous avons eu la surprise de rencontrer un acide sulfurique impur troublant tous les dosages par un apport considérable de phosphore *(voir note)*.

2° *Les produits chimiques utilisés doivent être purs*

Certaines impuretés contenus dans les produits utilisés peuvent fausser les résultats.

Il y a lieu notamment de s'assurer de la qualité de l'ammoniaque qui peut contenir du chlorure d'ammonium.

Lorsque l'on chauffe avec de la soude titrée, celle-ci se combine avec l'acide chlorhydrique du chlorure d'ammonium et chasse l'ammoniac. Ceci fausse le résultat final, car on titre non seulement le phosphore mais l'acide chlorhydrique du chlorure d'ammonium.

On fera la vérification de la manière suivante :

Mettre dans un ballon kjeldahl de 200 cc. :

NOTE. — Il s'agissait très vraisemblablement d'un flacon d'acide insuffisamment lavé par le fabricant avant le remplissage et ayant antérieurement contenu de l'acide phosphorique.

Ammoniaque à vérifier.....	10 cc.
Solution de soude N/20.....	20 cc.
Solution alcoolique de phénolphtaléine.	2 à 3 gouttes

Faire bouillir le tout jusqu'à départ complet de l'ammoniac et ajouter :

Solution d'acide sulfurique N/20.....	20 cc.

et finalement titrer à chaud par de la soude N/20.

Si l'ammoniaque ne contient pas de chlorure d'ammonium, il suffit d'une seule goutte de soude N/20 pour amener à la teinte rouge.

Dans le cas contraire, il faudra d'autant plus de soude qu'il y a plus de chlorure d'ammonium.

3° *Les solutions titrées employées doivent être exactes*

Voici, condensés dans un tableau les résultats des dosages effectués sur une solution titrée de phosphore préparée à partir du phosphate mono-ammonique de poids moléculaire 115.07 en dissolvant 3 gr. 707 de ce sel par litre d'eau distillée, et dont :

1 cc. = 0 gr. 001 de phosphore

Ce tableau nous montre par la constance des résultats obtenus que les solutions titrées utilisées sont exactes. Il nous montre également que dans notre façon d'opérer, nous avons eu une bonne précipitation du phosphore et aucune perte de ce dernier.

Prise d'essai en mmgr. de P.	Centi-cubes de soude N/20	P. retrouvé en mmgr.	Erreur relative
0,5	8,87	0.497	— 0,3 %
1	17,90	1,002	+ 0,2 %
0,5	8,95	0,501	+ 0,1 %
1	17,85	0,999	— 0,1 %

4° *La destruction sulfo-nitrique ne doit pas entraîner de perte de phosphore.*

Pour contrôler qu'aucune perte sensible de phosphore ne se produit au cours de la destruction sulfo-nitrique, nous avons effectué simultanément une série de dosages sur un sérum tel que et sur le même sérum additionné d'une quantité connue de phosphore. (Avec la solution titrée de phosphore précédemment employée).

Voici, condensés dans un tableau, les résultats de ces deux séries de dosages :

	Centi-cubes de soude N/20	P. retrouvé en mmgr. 0/00	Moyenne
Sérum seul			
Dosage n° 1.....	2,24	0,1250	
Dosage n° 2.....	2,23	0,1240	0,125
Dosage n° 3.....	2,25	0,1260	
Sérum additionné de 0 gr. 0100 de P			
Dosage n° 1.....	2,41	0,1349	
Dosage n° 2.....	2,40	0,1344	0,1349
Dosage n° 3.....	2,42	0,1355	

Ce qui finalement nous fait retrouver :

0,1349 — 0,1250 = 0,0099 de P.

soit une erreur relative en moins de 1 °/₀.

Les pertes au cours de la destruction sulfo-nitrique sont donc très minimes et même négligeables.

5° *Nous avons vérifié enfin que la précipitation des protéides par l'acide trichloracétique n'entraîne pas d'esters phosphoriques dans le précipité.*

Pour cela, nous avons recherché si l'on obtient pour un sang donné les mêmes résultats en opérant la précipitation des protéides par deux méthodes :

a) La précipitation par l'acide trichloracétique suivant la méthode décrite ci-dessus.

b) La précipitation à chaud par l'alcool concentré en laissant l'alcool bouillir au contact des protéides

puis en lavant les protéides coagulés par trois fois avec d'autre alcool chaud.

Les alcools sont réunis, concentrés par distillation sous vide jusqu'à ce qu'il ne reste plus que le petit volume d'eau provenant du sang.

Cette eau est mise en boule à décanter avec de l'éther qui dissous les lipides, mais laisse les esters phosphoriques.

L'eau lavée à l'éther sert au dosage des esters phosphoriques en la divisant en deux parts : l'une pour le dosage du phosphore total après destruction sulfonitrique, l'autre pour doser directement le phosphore salin.

En opérant ainsi, nous avons obtenu sur un même sang :

Après précipitation trichloracétique.. 0 gr. 142 d'esters, 0/00
Après précipitation à chaud par l'alcool 0 gr. 138 d'esters, 0/00

soit une faible différence par défaut de 0,004.

On note ainsi que, non seulement le précipité trichloracétique n'a pas entraîné d'esters phosphoriques, mais encore qu'il y a eu quelques pertes pendant les diverses manipulations de la précipitation à chaud par l'alcool concentré et cela malgré toutes les précautions.

La précipitation trichloracétique apparaît donc comme le procédé le plus pratique.

DEUXIÈME PARTIE

Cette partie comprendra la recherche et le dosage immédiat des esters phosphoriques dans :

— *Le sang total.*
— *Le sérum.*
— *Le plasma.*

Ce dernier étant obtenu de différentes façons afin d'étudier l'action des divers anticoagulants.

Tous les liquides examinés au cours de ces dosages (sang total, sérum, plasma) ont été prélevés à jeun sur des sujets en *très bonne santé*.

RECHERCHE ET DOSAGE DANS LE SANG TOTAL

Nous avons effectué une série de dix dosages sur du sang prélevé à dix sujets différents et en déféquant le sang immédiatement après la ponction veineuse.

Voici, condensés dans un tableau, les résultats obtenus exprimés en grammes par litre :

	P. total	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—	—
1..	0,302	0,210	0,044	0,165
2.....	0,302	0,208	0,058	0,150
3.....	0,305	0,207	0,067	0,140
4.....	0,302	0,212	0,026	0,186
5.....	0,365	0,218	0,050	0,168
6.....	0,363	0,225	0,060	0,165
7.....	0,338	0,232	0,050	0,182
8.....	0,358	0,215	0,033	0,182
9.....	0,359	0,221	0,038	0,183
10.....	0,360	0,238	0,026	0,211

Soit en moyenne par litre :

P total	0 gr. 335
P total acido-soluble	0 gr. 218
P salin	0 gr. 045
P des esters phosphoriques	0 gr. 173

Cette série de dosages nous montre que le sang total des sujets normaux contient des esters phosphoriques à la dose moyenne de 0 gr. 173 par litre, exprimés en P.

RECHERCHE ET DOSAGE DANS LE SÉRUM

Nous avons pratiqué ces dosages sur une série de dix sérums *frais*.

Voici, dans un tableau, les résultats analytiques obtenus, exprimés en grammes par litre :

	P. total	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—	—
1.....	0,120	0,039	0,039	0
2.....	0,126	0,016	0,016	0
3.....	0,134	0,033	0,033	0
4.....	0,118	0,033	0,033	0
5.....	0,124	0,044	0,044	0
6.....	0,128	0,038	0,037	0,001
7.....	0,119	0,034	0,034	0
8.....	0,122	0,029	0,029	0
9.....	0,129	0,045	0,045	0
10.....	0,127	0,050	0,050	0

Soit en moyenne par litre :

P total	0 gr. 124
P total acido-soluble	0 gr. 036
P salin	0 gr. 036
P des esters phosphoriques	*Néant*

L'étude de ces différents résultats montre que le sérum humain, à l'état normal, ne contient pas d'esters phosphoriques.

RECHERCHE ET DOSAGE DANS LE PLASMA

En vue d'obtenir le plasma nécessaire à ces dosages, nous avons successivement traité le sang prélevé par les quatre anticoagulants suivants :

1. — Citrate de soude.
2. — Fluorure de sodium.
3. — Oxalate de potasse.
4. — « Liquoïde » ou polyanetholsulfonate de sodium.

en nous proposant de vérifier si les résultats obtenus sont concordants pour chaque anticoagulant utilisé.

Pour chaque série, nous avons pratiqué dix dosages.

1° *Plasma obtenu avec une solution de citrate de soude.*

Il a été utilisé une solution de citrate de soude à 5 % à la dose de 1 cc. pour 8 à 10 cc. de sang.

Voici les résultats obtenus sur une série de dix dosages.

	P. total	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—	—
1	0,128	0,032	0,032	0
2	0,124	0,026	0,026	0
3	0,123	0,021	0,021	0
4	0,130	0,024	0,024	0
5	0,127	0,031	0,031	0
6	0,120	0,046	0,046	0
7	0,132	0,056	0,056	0
8	0,115	0,040	0,040	0
9	0,120	0,049	0,049	0
10	0,126	0,039	0,039	0

Soit en moyenne par litre :

P total	0 gr. 124
P total acido-soluble	0 gr. 036
P salin	0 gr. 036
P des esters phosphoriques	*Néant*

A l'état normal, le plasma immédiat obtenu avec le citrate de soude ne montre pas d'esters phosphoriques.

2° *Plasma obtenu avec le fluorure de sodium*

Ce sel a été utilisé à la dose de 0 gr. 50 pour 8 à 10 cc. de sang.

Pour une série de dix dosages, les résultats ont été :

	P. total	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—	—
1	0,125	0,035	0,035	0
2	0,121	0,059	0,059	0
3	0,116	0,046	0,046	0
4	0,133	0,032	0,032	0
5	0,129	0,029	0,029	0
6	0,128	0,024	0,024	0
7	0,129	0,025	0,025	0
8	0,131	0,031	0,031	0
9	0,123	0,023	0,023	0
10	0,120	0,042	0,042	0

Soit en moyenne par litre :

P total	0 gr. 125
P total acido-soluble	0 gr. 035
P salin	0 gr. 035
P des esters phosphoriques	*Néant*

A l'état normal, le plasma immédiat obtenu avec le fluorure de sodium ne montre pas d'esters phosphoriques

3° *Plasma obtenu avec l'oxalate de potasse*

Il a été utilisé une solution à 5 % à la dose de 1 cc. pour 8 à 10 cc. de sang.

Pour une série de dix dosages, les résultats obtenus, exprimés en grammes par litre, ont été les suivants :

	P. total	P. total acido-soluble	P. salin	P des esters phosphoriques
1	0,120	0,029	0,029	0
2	0,126	0,050	0,049	0,001
3	0,134	0,043	0,043	0
4	0,115	0,018	0,018	0
5	0,124	0,019	0,019	0
6	0,120	0,039	0,040	0
7	0,119	0,035	0,035	0
8	0,130	0,031	0,031	0
9	0,132	0,023	0,023	0
10	0,140	0,028	0,027	0,001

Soit en moyenne par litre :

P total	0 gr. 126
P total acido-soluble	0 gr. 031
P salin	0 gr. 031
P des esters phosphoriques	*Néant*

A l'état normal, le plasma immédiat obtenu avec l'oxalate de potasse ne montre pas d'esters phosphoriques

4° *Plasma obtenu avec le « liquoïde »*

Il a été utilisé une solution à 1 % à la dose de 1 cc. pour 8 à 10 cc. de sang.

Pour une série de dix dosages, les résultats obtenus, exprimés en grammes par litre, ont été les suivants :

	P. total	P total acido-soluble	P. Salin	P des esters phosphoriques
	—	—	—	—
1.....	0,136	0,052	0,052	0
2.....	0,132	0,026	0,026	0
3.....	0,117	0,023	0,023	0
4.....	0,123	0,048	0,048	0
5.....	0,130	0,025	0,025	0
6.....	0,119	0,034	0,034	0
7.....	0,121	0,040	0,040	0
8.....	0,118	0,028	0,027	0,001
9.....	0,121	0,031	0,031	0
10.....	0,118	0,030	0,030	0

Soit en moyenne par litre :

P total	0 gr. 123
P total acido-soluble.....	0 gr. 033
P salin	0 gr. 033
P des esters phosphoriques.....	*Néant*

A l'état normal, le plasma immédiat obtenu avec le « liquoïde » ne montre pas d'esters phosphoriques.

TROISIÈME PARTIE

Ce chapitre a pour but :

A) L'étude des variations de la teneur en esters phosphoriques du sang total en fonction du temps et de la température.

B) La recherche des esters dans le sérum et le plasma obtenu de différentes façons afin de savoir si, en fonction du temps et de la température, il existe *une diffusion des esters*.

Qu'il s'agisse du sang total, du sérum ou du plasma, tous les prélèvements ont été aseptiques et les liquides divisés en deux parties :

— L'une conservée à la température du Laboratoire (16 à 18°).

— L'autre conservée à la température de la glacière (0 à 1°).

Pour chaque série, la durée de conservation a été de vingt jours avec les dosages pratiqués tous les quatre jours.

Pour chacun des dosages pratiqués, le sang utilisé provient du même sujet et a été prélevé dans des conditions *identiques*.

A) ETUDE DES VARIATIONS DES ESTERS DU SANG TOTAL

Voici les résultats obtenus, exprimés en grammes par litre :

1°) *Pour le sang total conservé à la température de la glacière.*

Dosages	P. total acido-soluble	P salin	P des esters phosphoriques
Immédiat.....	0,213	0,045	0,168
4 jours.....	0,215	0,050	0,165
8 jours.....	0,221	0,063	0,158
12 jours.....	0,214	0,072	0,142
16 jours.....	0,208	0,082	0,126
20 jours	0,212	0,095	0,117

2°) *Pour le sang total conservé à la température du Laboratoire.*

Dosages	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Immédiat.....	0,210	0,044	0,165
4 jours.....	0,218	0,089	0,128
8 jours.....	0,206	0,123	0,083
12 jours.....	0,202	0,150	0,052
16 jours.....	0,210	0,170	0,040
20 jours.....	0,231	0,200	0,031

L'étude des chiffres obtenus dans ces deux séries de dosages, nous montre :

1° *Les esters diminuent avec le temps.*

2° *Ils diminuent plus vite à la température du laboratoire qu'à la température de la glacière* (voir graphique 1, p. 38).

3° *Enfin, l'on constate également que, parallèlement à la diminution des esters phosphoriques, il existe dans chaque série (température de la glacière et température du laboratoire) une augmentation du phosphore salin* (voir graphique II, p. 39).

Cette dernière constatation n'est pas moins importante. Elle nous montre la transformation des esters et comment se fait cette transformation. A la base de celle-ci se trouve un système enzymatique du groupe des estérases qui détruit les esters.

B) RECHERCHE DES ESTERS DANS LE SÉRUM ET LE PLASMA

1. — Sérum

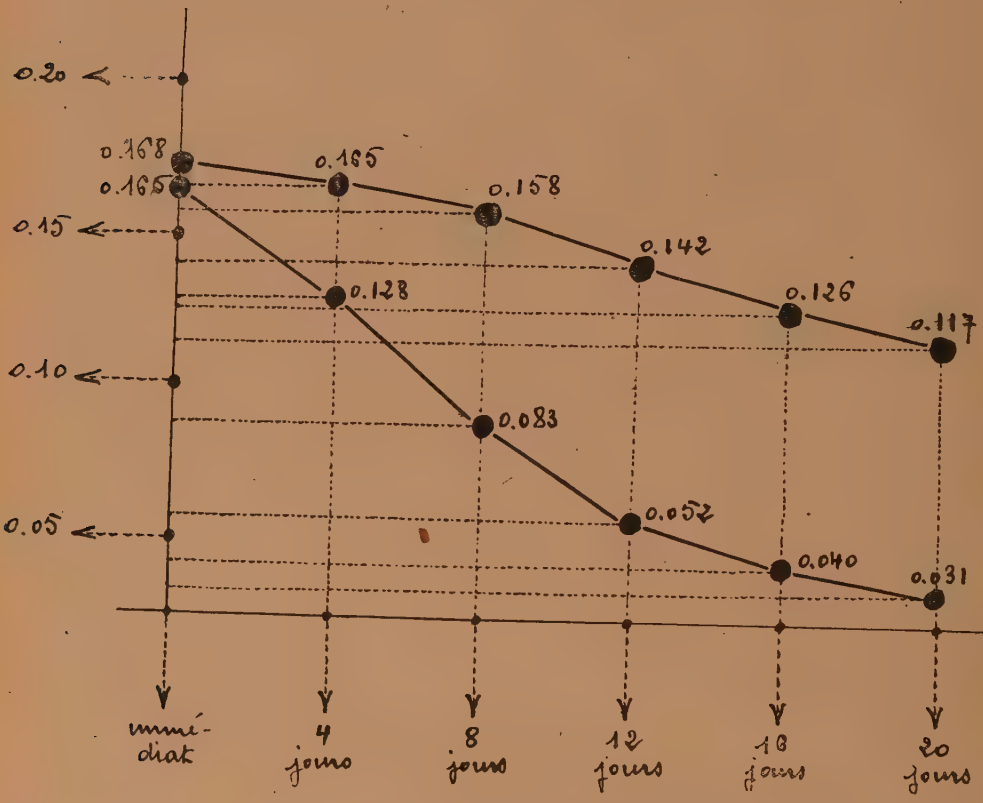
Nous avons vu précédemment que le sérum frais ne contient pas d'esters.

Par contre, est-ce qu'il existe une diffusion des esters dans le sérum suivant le temps et la température, en laissant le sérum en contact avec le caillot?

Les deux séries de dosages faites, l'une sur le sérum conservé à la température de la glacière, l'autre

GRAPHIQUE I

représentant la diminution des esters dans le sang total en fonction du temps et de la température.

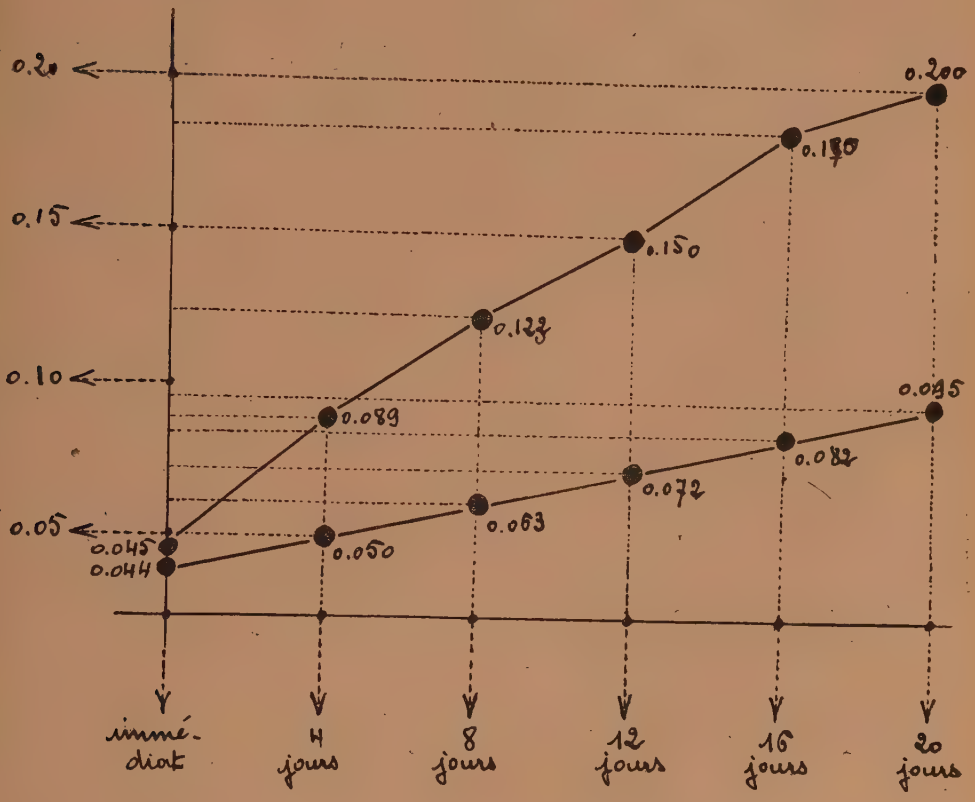


— La ligne supérieure represente la diminution à la température de la glacière (0° à 1°).

— La ligne inférieure représente la diminution à la température du laboratoire (16° à 18°).

GRAPHIQUE II

représentant l'augmentation régulière du phosphore salin dans le sang total en fonction du temps et de la température.



— La ligne supérieure représente cette augmentation à la température du laboratoire.

— La ligne inférieure représente cette augmentation à la température de la glacière.

sur le sérum conservé à la température du laboratoire nous donnent les résultats suivants, exprimés en grammes par litre :

Sérum conservé à la température de la glacière

Dosages	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Immédiat	0,039	0,039	0
4 jours	0,047	0,047	0
8 jours	0,053	0,053	0
12 jours	0,056	0,056	0
16 jours	0,077	0,077	0
20 jours	0,105	0,105	0

Sérum conservé à la température du laboratoire

Immédiat	0,039	0,039	0
4 jours	0,062	0,062	0
8 jours	0,122	0.122	0
12 jours	0,165	0.165	0
16 jours	0,193	0,193	0
20 jours	0,205	0,205	0

Ces résultats montrent, d'une part, que le sérum conservé ne contient pas d'esters libres.

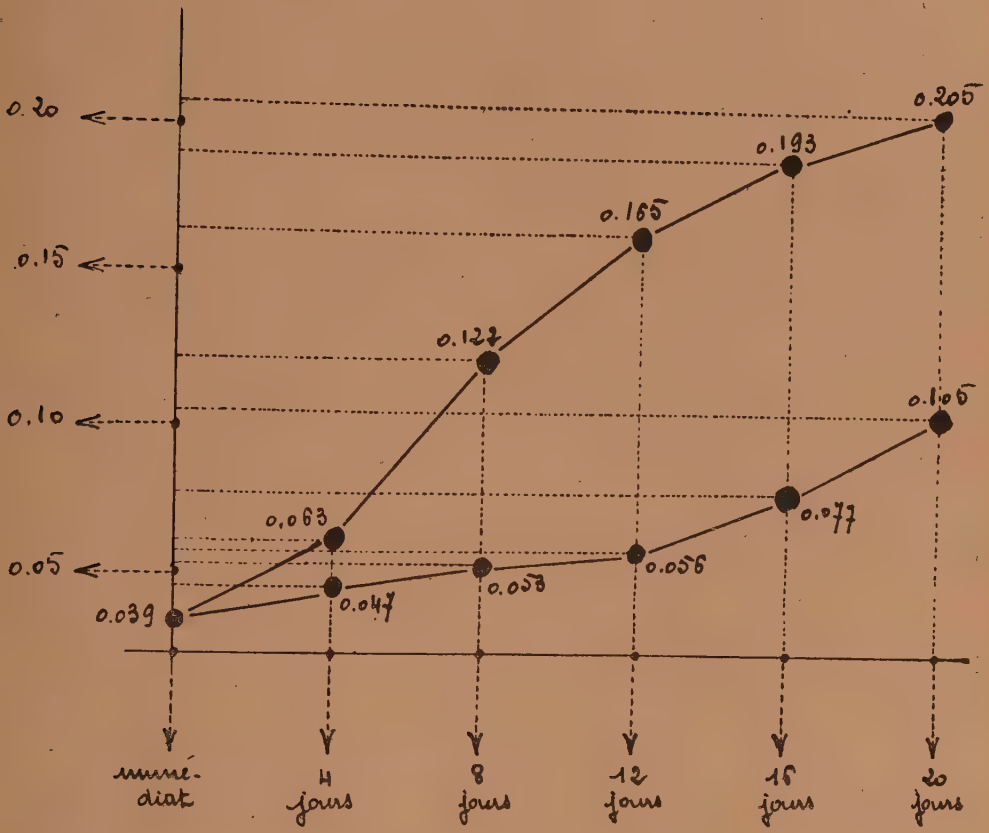
Il n'y a pas diffusion des esters en fonction du temps et de la température.

D'autre part, ils montrent que, s'il n'y a pas diffusion à l'état libre, il y une augmentation régulière du phosphore salin.

Cette augmentation, qui est de même nature que celle rencontrée dans le sang total, est, elle aussi liée au système enzymatique des esterases. Cette transformation des esters qui augmente avec le temps est plus rapide à la température du laboratoire qu'à celle de la glacière (voir graphique III, p. 39).

GRAPHIQUE III

représentant l'augmentation régulière du phosphore salin dans le sérum en fonction du temps et de la température.



— La ligne supérieure représente cette augmentation à la température du laboratoire.

— La ligne inférieure représente cette augmentation à la température de la glacère.

Deux questions se posent pour le plasma :

— D'abord la même question que pour le sérum :

Est-ce qu'il existe une diffusion des esters dans le plasma, suivant le temps et la température, en laissant le plasma en contact avec les globules ?

— Ensuite, la deuxième question qui se pose est la suivante :

Quelle est l'action des divers anticoagulants utilisés pour obtenir le plasma vis-à-vis de la diffusion des esters ?

A ce sujet, nous envisagerons successivement l'action :

1° — du citrate de soude.
2° — du fluorure de sodium.
3° — de l'oxalate de potasse.
4° — du « liquoïde ».

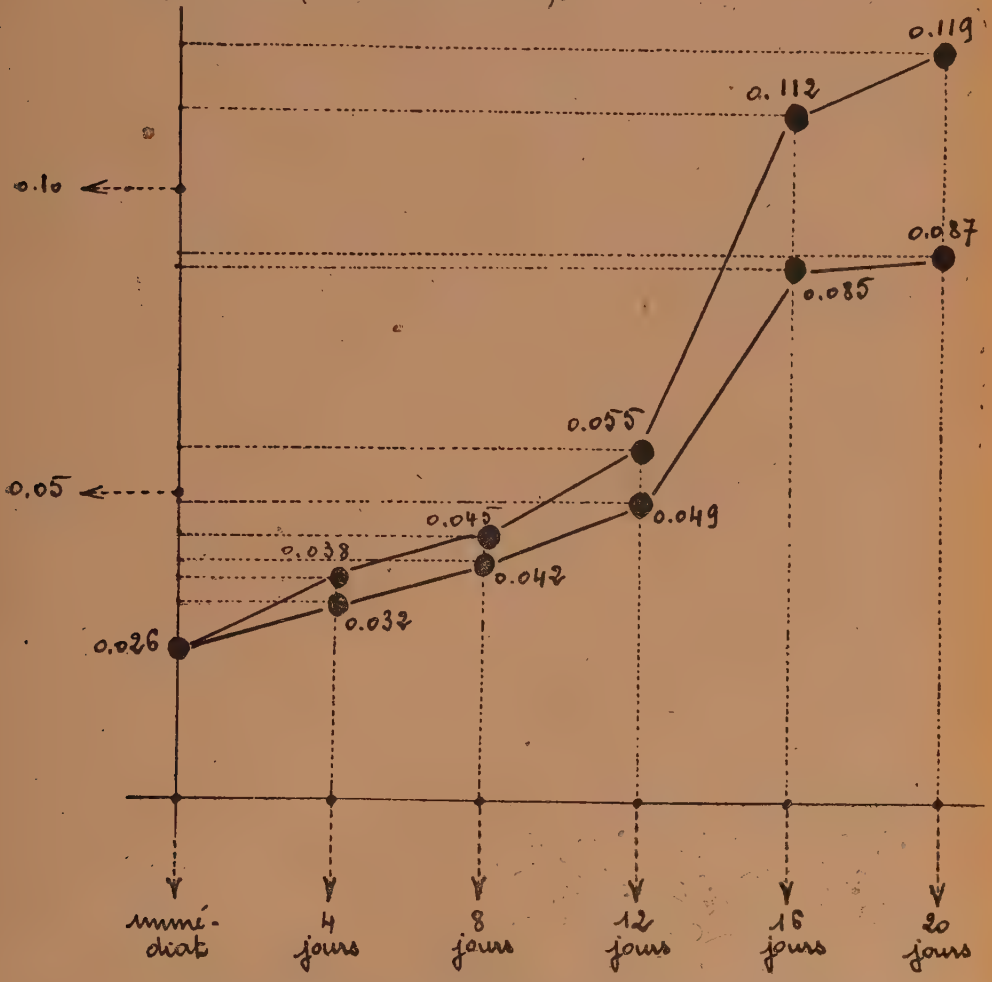
Ces divers anticoagulants ont été employés aux doses et aux concentrations déjà indiquées plus haut lors de la recherche et du dosage des esters phosphoriques dans le plasma.

1°. — *Plasma obtenu avec le citrate de soude*

Voici les résultats obtenus, exprimés en grammes par litre :

GRAPHIQUE IV

représentant l'augmentation régulière du phosphore salin dans le plasma en fonction du temps et de la température (Citrate de soude).



— La ligne supérieure représente cette augmentation à la température du laboratoire.

— La ligne inférieure représente cette augmentation à la température de la glacière.

Conservation à la température de la glacière

Dosages	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Immédiat.....	0,026	0,026	0
4 jours	0,032	0,032	0
8 jours.....	0,042	0,042	0
12 jours.....	0,049	0,049	0
16 jours.....	0,085	0,085	0
20 jours.....	0,087	0,087	0

Convervation à la température du laboratoire

Immédiat	0,026	0,026	0
4 jours.....	0,038	0,038	0
8 jours.....	0,045	0,045	0
12 jours.....	0,055	0,055	0
16 jours.....	0,112	0,112	0
20 jours.....	0,119	0,119	0

Il résulte de ces dosages les constatations suivantes :

— *Il n'y a pas diffusion des esters.*

— *Il existe une augmentation progressive du taux du phosphore salin en fonction du temps et de la température* (voir graphique IV, p. 36).

2° — *Plasma obtenu avec le fluorure de sodium*

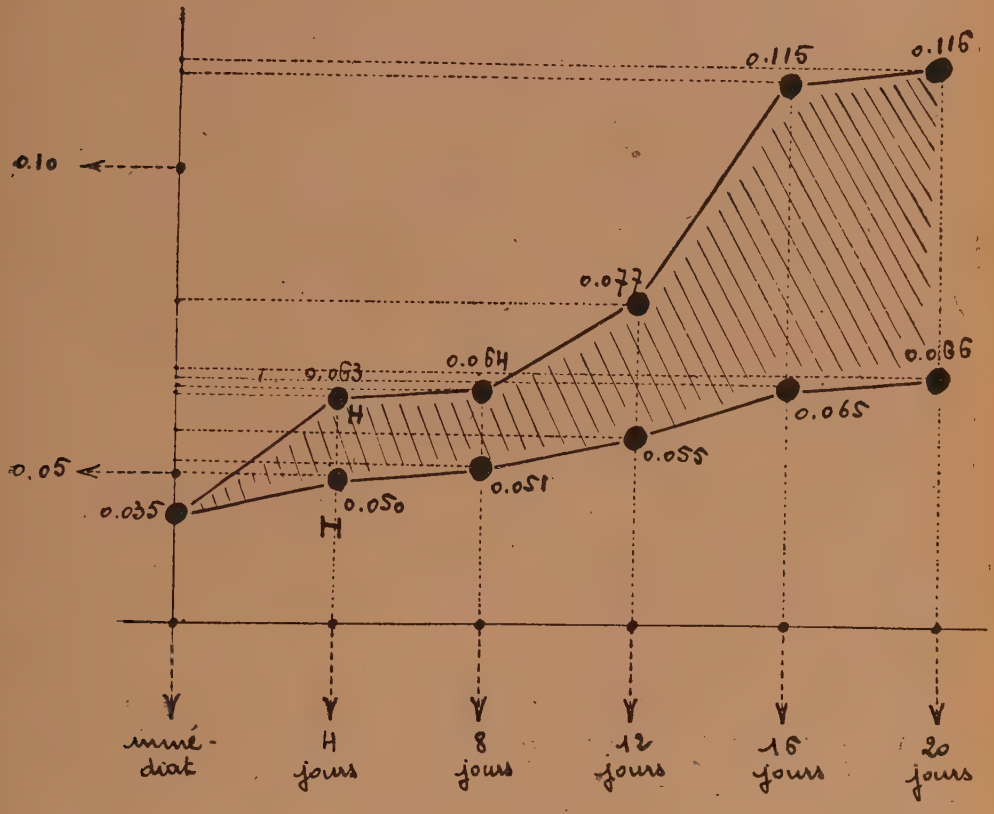
Voici les résultats obtenus, exprimés en grammes par litre :

— *Conservation à la température de la glacière*

Dosages	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Immédiat	0,035	0,035	0
4 jours.....	0,063	0,050	0,013
8 jours.....	0,064	0,051	0,013
12 jours.....	0,077	0,055	0,022
16 jours.....	0,115	0,065	0,050
20 jours.....	0,116	0,066	0,050

GRAPHIQUE V

représentant la diffusion partielle des esters dans le plasma obtenu avec le fluorure de sodium et conservé à la température de la glacière.

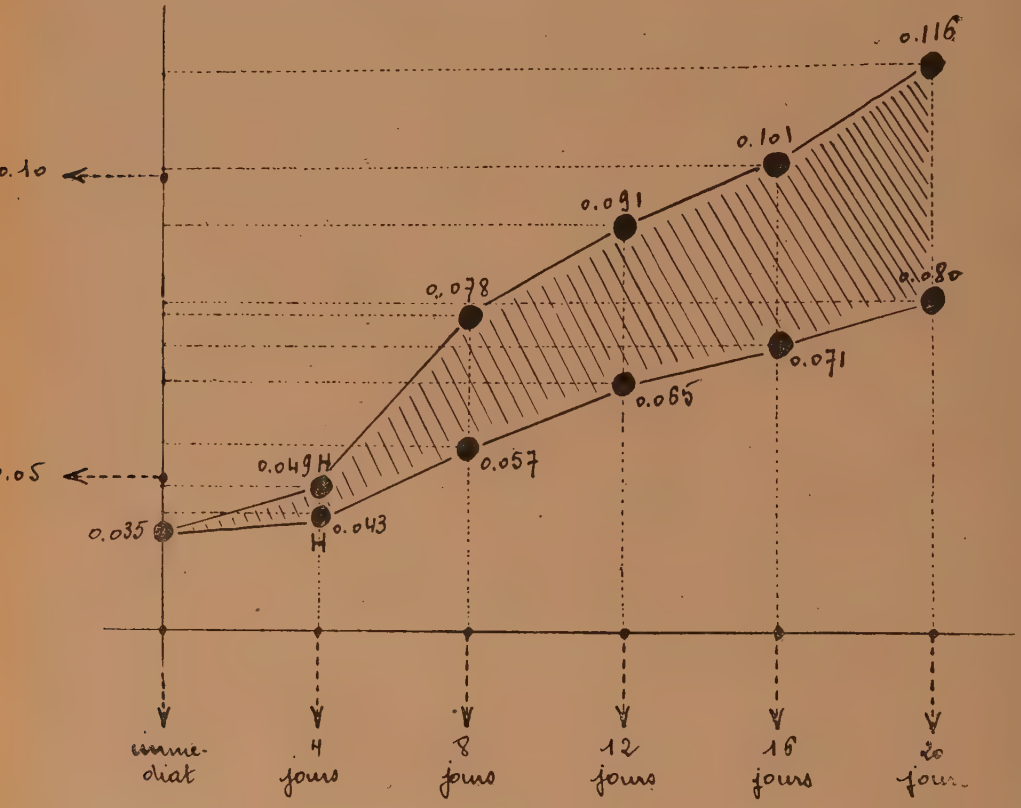


— H indique sur le graphique le début de l'hémolyse.

— La partie hachurée représente la zone de diffusion des esters.

GRAPHIQUE VI

représentant la diffusion partielle des esters dans le plasma obtenu avec le fluorure de sodium et conservé à la température du laboratoire.



— H indique sur le graphique le début de l'hémolyse.

— La partie hachurée représente la zone de diffusion des esters.

Conservation à la température du laboratoire

Immédiat.....	0,035	0,035	0
4 jours.....	0,049	0,043	0,006
8 jours.....	0,078	0,057	0,021
12 jours.....	0,091	0,065	0,026
16 jours.....	0,101	0,071	0,030
20 jours.....	0,116	0,080	0,036

Nous constatons d'après ces dosages qu'il existe une diffusion partielle des esters dans le plasma obtenu avec le fluorure de sodium.

Cette diffusion semble être le résultat de l'hémolyse, En effet, dans le plasma obtenu avec le fluorure de sodium, on note une hémolyse très précoce qui libère une partie des esters contenus dans les éléments figurés du sang et particulièrement dans les globules rouges (voir graphiques V et IV, pages 43 et 44).

3°. — *Plasma obtenu avec l'oxalate de potasse*

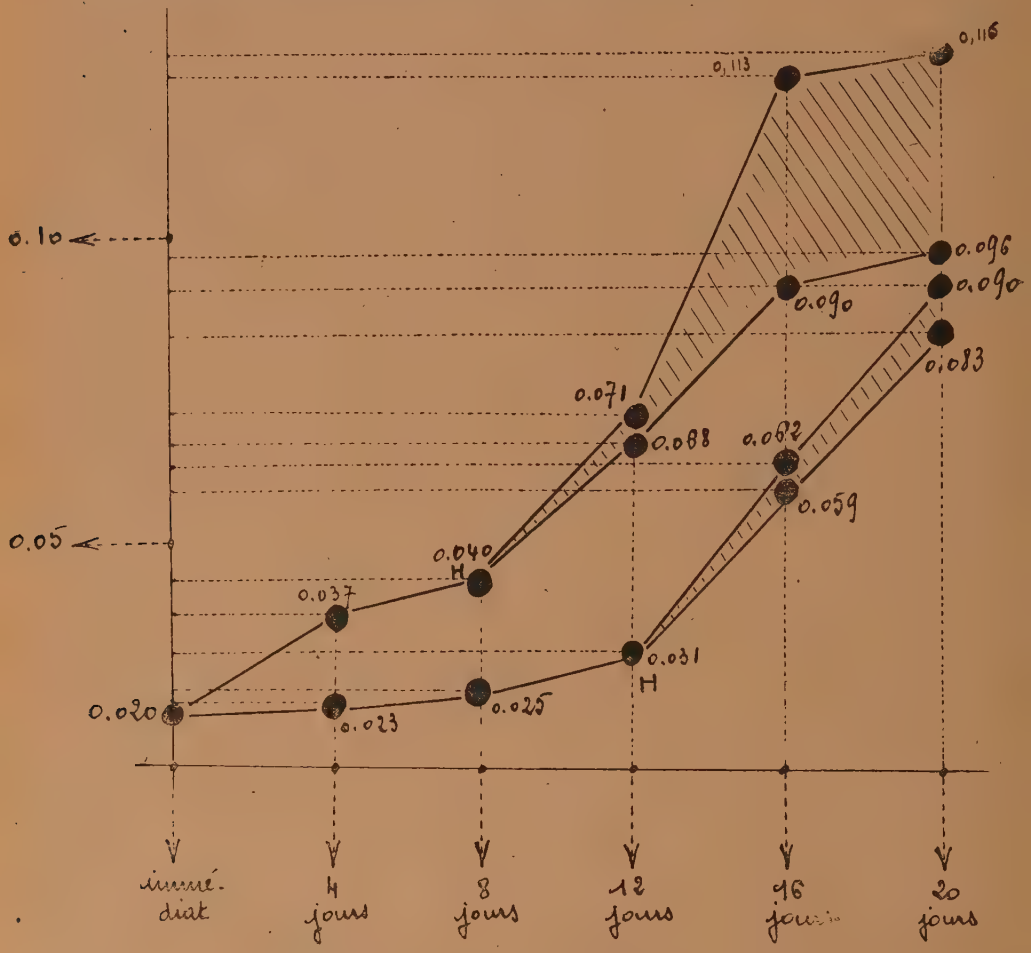
Voici les résultats obtenus, exprimés en grammes par litre :

Conservation à la température de la glacière

Dosages	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Immédiat.....	0,020	0,020	0
4 jours.....	0,023	0,023	0
8 jours.....	0,025	0,025	0
12 jours.....	0,031	0,031	0
16 jours.....	0,062	0,059	0,003
20 jours.....	0,090	0,083	0,007

GRAPHIQUE VII

représentant la diffusion des esters dans le plasma obtenu avec l'oxalate de potasse et conservé aux températures du laboratoire et de la glacière.

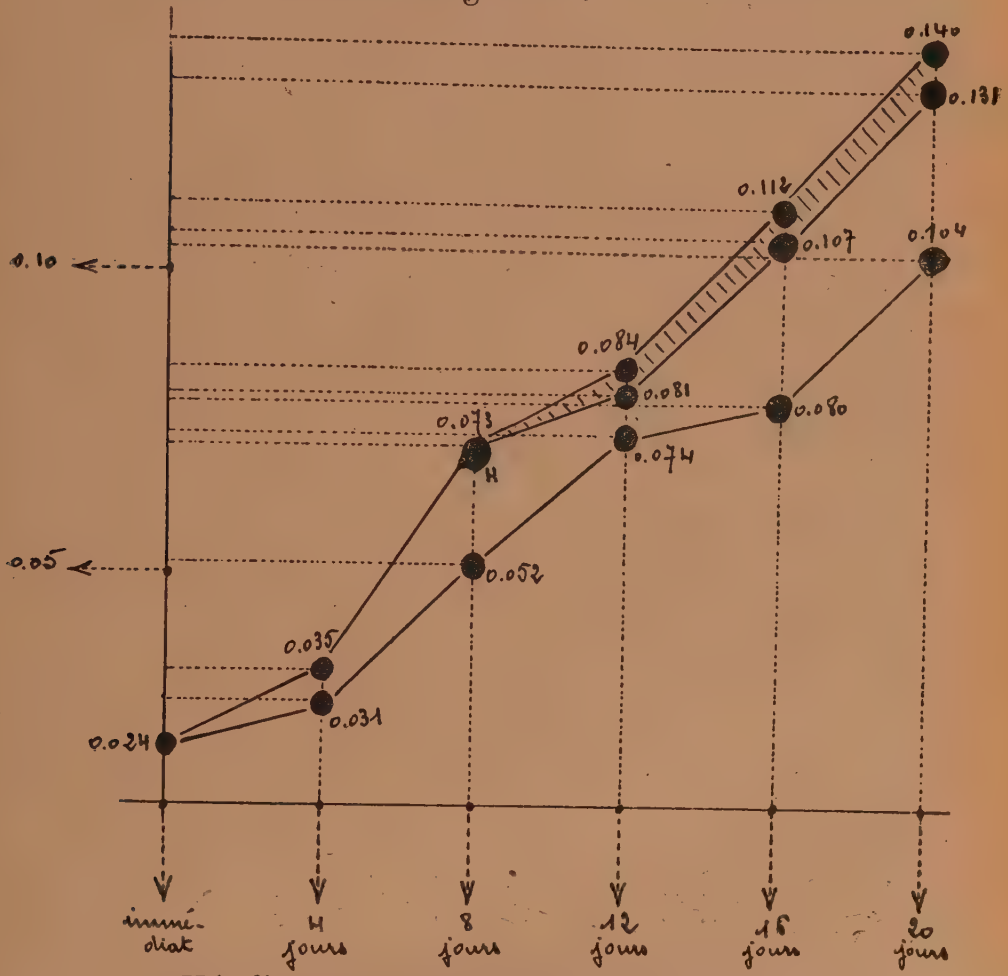


H indique sur le graphique le début de l'hémolyse.

— Les parties hachurées représentent la zone de diffusion des esters.

GRAPHIQUE VIII

représentant la diffusion des esters dans le plasma obtenu avec le liquoïde et conservé aux températures du laboratoire et de la glacière.



— H indique sur le graphique le début de l'hémolyse.

— La partie hachurée représente la zone de diffusion des esters.

Conservation à la température du laboratoire

Dosages	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Immédiat	0,020	0,020	0
4 jours	0,037	0,037	0
8 jours	0,040	0,040	0
12 jours	0,071	0,068	0,003
16 jours	0,113	0,093	0,020
20 jours	0,116	0,096	0,020

Nous voyons que *dans le cas du plasma obtenu avec de l'oxalate de potasse, il existe une légère diffusion des esters qui commence tardivement au moment où débute l'hémolyse* (Voir graphique VII, p. 46).

4°. — *Plasma obtenu avec le « liquoïde »*

Voici les résultats obtenus, exprimés en grammes par litre :

Conservation à la température de la glacière

Dosages	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Immédiat	0,024	0,024	0
4 jours	0,031	0,031	0
8 jours	0,052	0,052	0
12 jours	0,074	0,074	0
16 jours	0,080	0,080	0
20 jours	0,104	0,104	0

Conservation à la température du laboratoire

Immédiat	0,024	0,024	0
4 jours	0,035	0,035	0
8 jours	0,073	0,073	0
12 jours	0,084	0,081	0,003
16 jours	0,112	0,107	0,005
20 jours	0,140	0,131	0,009

Dans le cas du plasma obtenu avec le liquoïde, *on ne remarque pas de diffusion des esters.*

Celle-ci est très faible dans le cas du plasma conservé à la température du laboratoire et paraît due à l'hémolyse (voir graphique VIII, p. 47).

En résumé :

Ce chapitre troisième nous montre que :

a) Le taux des esters phosphoriques contenus dans le sang total est instable et varie avec le temps et la température.

Il y a une diminution progressive des esters parallèlement à une augmentation progressive du phosphore salin. Cette transformation, due à un systéme enzymatique, s'accentue avec le temps et cela d'autant plus vite que la température est plus élevée.

b) Dans le sérum maintenu en contact avec le caillot, il n'y a pas, en fonction du temps et de la température, diffusion des esters à l'état libre. Néanmoins, on constate une augmentation régulière du phosphore salin. Celle-ci résulte de la transformation enzymatique des esters phosphoriques contenus dans les éléments figurés du caillot. Ce phénomène est le même que celui que nous avons observé dans le sang total.

c) Dans le plasma maintenu en contact avec les globules, il n'y a pas, en fonction du temps et de la température, diffusion des esters à l'état libre. On constate également une augmentation régulière du phosphore salin due à la transformation enzymatique des esters contenus dans les éléments figurés.

Dans le plasma, tout se passe donc comme dans le sérum.

d) Les divers anticoagulants étudiés pour obtenir le plasma n'entraînent par la diffusion des esters.

e) Chaque fois que cette diffusion a été constatée, il faut noter qu'elle a été peu importante et qu'elle était le résultat d'une hémolyse plus ou moins marquée à

la suite de laquelle des esters se trouvent libérés par lyse globulaire.

A ce sujet, l'on remarque, d'après nos dosages, que le meilleur anticoagulant utilisé a été le citrate de soude avec lequel nous n'avons eu aucune hémolyse. Par contre, le fluorure de sodium nous apparaît comme le plus mauvais. Avec l'emploi de ce sel, on constate en effet une hémolyse marquée dès le quatrième jour, même à la température de la glacière.

QUATRIÈME PARTIE

Cette quatrième partie comprendra l'étude des esters phosphoriques contenus dans les globules sanguins.

Antérieurement, dans nos dosages précédents, nous avons vu que, parmi tous les liquides étudiés : sang total, sérum, plasma, le sang total seul contient des esters phosphoriques.

Dans les résulats qui vont suivre, nous avons simultanément dosé pour un même sang, les esters dans le sang total et dans les globules traités comme il a été décrit dans la méthode de dosage.

Voici les résultats obtenus, exprimés en grammes par litre, pour plusieurs séries de dosages :

Première série

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0,182	0,056	0,126
Hématies.....	0,159	0,033	0,126
Deuxième série			
Sang total.....	0,230	0,050	0,180
Hématies.....	0,225	0,047	0,178
Troisième série			
Sang total.....	0,204	0,033	0,171
Hématies.....	0,190	0,023	0,167
Quatrième série			
Sang total.....	0,220	0,045	0,175
Hématies.....	0,202	0,030	0,172

Soit en moyenne pour les quatre dosages :

P des esters phosphoriques du sang total.... 0,163 0/
P des esters phosphoriques des hématies 0,160 0/00

Ces résultats sont très voisins.

Devant cette différence peu importante (0,003 soit 1,8 %). on peut considérer que le taux des esters phosphoriques du sang total et celui des hématies sont identiques :

Ce qui amène cette conclusion, à savoir que :

Les esters phosphoriques du sang sont uniquement contenus dans les éléments figurés et particulièrement dans les globules rouges.

Nous terminerons cette étude des esters phosphoriques des globules en étudiant le lavage de ces globules par le sérum physiologique pour savoir si, au cours de ces lavages, les esters diffusent hors des globules.

Les globules séparés du plasma ont été lavés quatre fois avec du sérum physiologique à 8 gr. 50 par litre. Après ces lavages, le culot globulaire a été dissous dans un volume d'eau distillée tel que le volume total soit égal au volume primitif du sang, et les esters dosés suivant le procédé habituel.

Voici dans une série de dosages, les résultats obtenus, exprimés en grammes pour les globules d'un litre de sang :

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	Première série		
Hématies non lavées.	0,173	0,020	0,153
Hématies lavées	0,171	0,022	0,148
	Deuxième série		
Hématies non lavées.	0,172	0,039	0,133
Hématies lavées....	0,168	0,038	0,130
	Troisième série		
Hématies non lavées.	0,184	0,030	0,154
Hématies lavées....	0,184	0,024	0,150
	Quatrième série		
Hématies non lavées.	0,200	0,025	0,175
Hématies lavées....	0,196	0,020	0,176

Si nous établissons la moyenne de ces dosages, on trouve :

P des esters phosphoriques dans les hématies non lavées..... 0,153 °/₀₀

P des esters phosphoriques dans les hématies lavées..... 0,151 °/₀₀

En présence de cette différence très faible (0,002, soit 1,7 °/₀). on peut conclure que :

Les lavages des globules avec le sérum physiologique n'entraînent pas la diffusion des esters hors des globules.

Ce fait est très intéressant.

Si la moindre diffusion des esters existait la répétition des lavages entraînerait un enlèvement sensible des esters. On peut difficilement admettre une imperméabilité totale d'une membrane, perméable à l'eau, vis-à-vis des molécules hydro-solubles de petites dimensions comme les esters phosphoriques du sang.

Le phénomène est fort complexe. Il est probable que les esters doivent être liés à quelque constituant cytoplasmique non diffusible, peut-être à des protéides.

CINQUIÈME PARTIE

Cette cinquième et dernière partie sera consacrée à l'étude des esters phosphoriques dans des cas pathologiques nettement déterminés.

Pour chacun de ceux-ci, nous étudierons :

a) Le taux des esters dans le sang total, pour en connaître les variations possibles au cours des maladies choisies.

b) La recherche des esters dans le sérum et dans le plasma pour savoir si, dans certaines maladies, on y rencontre *anormalement* ces esters.

Nous avons vu, en effet, que le sang normal, le sérum et le plasma ne contiennent pas d'esters.

Il nous a été possible d'étudier les cas pathologiques suivants :

I. - DANS LES OSTEOPATHIES DIVERSES, GÉNÉRALISÉES OU LOCALES.

— Ostéite déformante de Paget.
— Rachitisme.
— Cancer osseux métastasique à la suite d'une tumeur thyroïdienne.
— Ostéomalacie.
— Acromégalie.
— Syphilis osseuse.
— Ostéoporose.
— Arthrite suppurée.
— Certaines infections osseuses destructrices :
  ostéite tuberculeuse.
  ostéomyélite.
— Individus en période de réparation osseuse pour les fractures.
— Mal de Pott.

II. - DANS CERTAINES AFFECTIONS VISCÉRALES ET MALADIES DE LA NUTRITION.

— Ictères :
  a) Ictère par retention.
  b) Ictère par hépatite.
  c) Ictère hémolytique.

— Maladies du rein :

a) Cancer du rein :

b) Néphrite aigüe.

c) Tuberculose rénale.

— Maladie endocrinienne : goître exophtalmique.

— Diabète.

— Tuberculose pulmonaire.

III. — DANS LES MALADIES DU SANG

— Etat anémique.

— Leucémie myéloïde.

— Maladie de Hodgkin.

IV. — DANS LES GROS ACCÈS FÉBRILES

— Gros accès de fièvre au cours d'une crise de paludisme.

V. — DANS LA GROSSESSE

I. — ETUDE DES ESTERS DANS LE SANG PROVENANT DE MALADES ATTEINTS D'OSTÉOPATHIES DIVERSES.

1. — Ostéite déformante de Paget

Voici les résultats obtenus dans deux cas de maladie de Paget : ostéite *généralisée* et ostéite *localisée*.

Ostéite généralisée.

Sang de Monsieur M....., 45 ans, en traitement à l'hôpital pour ostéite généralisée avec signes cliniques et radiologiques nets.

Evolution peu rapide.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Sang total	0 gr. 169 0/00	0 gr. 036	0 gr. 133
Sérum	0 gr. 031 0/00	0 gr. 031	0
Plasma	0 gr. 020 0/00	0 gr. 020	0

Ostéite localisée.

Sang de Monsieur D...., 52 ans, en traitement pour ostéite déformante des deux jambes évoluant lentement.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Sang total	0 gr. 134 0/00	0 gr. 051	0 gr. 083
Sérum	0 gr. 024 0/00	0 gr. 024	0
Plasma	0 gr. 015 0/00	0 gr. 015	0

2. — Rachitisme

Sang de l'enfant M....., 4 ans, présentant des signes évidents de rachitisme non traité : face ayant un aspect spécial avec maxillaire inférieur aplati, dents altérées, thorax déformé avec sternum " en carène " série de nodosités marquant la ligne des articulations

chondro-costales, membres inférieurs ayant un aspect " en parenthéses ". Anémie légère sans formule hématologique spéciale (3.700.000 globules rouges par mm3).

Sang total:

P. total	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
0 gr. 170 0/00	0 gr. 090	0 gr. 008	0 gr. 082
Sérum:			
0 gr. 05 0/00	0 gr. 005	0 gr. 005	0
Plasma:			
0 gr. 06 0/00	0 gr. 007	0 gr. 007	0

Nous avons pratiqué sur ce malade un nouveau prélèvement de sang après administration d'une dose massive et unique de vitamine D.

Voici les résultats obtenus ;

Sang total:			
0 gr. 250 0/00	0 gr. 150	0 gr. 010	0 gr. 140
Sérum:			
0 gr. 07 0/00	0 gr. 010	0 gr. 010	0
Plasma:			
0 gr. 085 0/00	0 gr. 009	0 gr. 009	0

3. — Cancer osseux métastasique a la suite d'une tumeur thyroidienne.

Sang de Madame D....., 45 ans, atteinte d'une thyroïdienne avec métastases osseuses localisées à la partie diaphysaire des os longs et aux corps vertébraux.

Malade apyrétique.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Sang total	0 gr. 200 0/00	0 gr. 032	0 gr. 168
Sérum	0 gr. 030 0/00	0 gr. 029	0 gr. 001
Plasma.....	0 gr. 030 0/00	0 gr. 030	0

4. — Ostéomalacie

Sang de Madame G....., 35 ans, présentant des signes d'ostéomalacie : déformation du bassin, démarche difficile et chancelante, os des membres inférieurs incurvés, douleurs constantes.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Sang total	0 gr. 120 0/00	0 gr. 005	0 gr. 115
Sérum	0 gr. 007 0/00	0 gr. 007	0
Plasma	0 gr. 006 0/00	0 gr. 007	0

5. — Acromégalie

Madame D....., 55 ans, entre à l'hôpital pour acromégalie et troubles articulaires.

Acromégalie déjà révélée en 1916 par l'augmentation du volume des doigts qui nécessite le sciage de son alliance ; depuis l'augmentation a été progressive. Pour les pieds, par exemple, la malade chaussait 39 en 1916 et 43 aujourd'hui. Traitement par radiothérapie il y a 10 ans.

Aujourd'hui, acromégalie évidente se traduisant par :

— *Signes extérieurs :*

— Face allongée, nez épaté à la base.
— Hypertrophie des extrémités des membres.

— *Signes viscéraux :*

— Hypertrophie du cœur.
— Hyperglycémie marquée : 1 gr. 64 de glucose 0/00.

— *Signes radiologiques :*

— L'examen du squelette montre sur les os des extrémités ainsi qu'aux parties terminales des os longs une hyperplasie osseuse se traduisant par une augmentation globale du diamètre osseux avec résorption centrale parallèle.

— *Examens de laboratoire :*

Calcémie	0 gr. 0104 0/00
Calciurie	0 gr. 031 0/00
Cholesterol	1 gr. 50 0/00
Urée sanguine	0 gr. 35 0/00
Phosphatase	8 unités Bodansky
Protides totaux	70 gr. 0/00
dont :	
Albumine	36 gr.
Globulines	34 gr.

Les examens pratiqués en vue du dosage des esters phosphoriques dans le sang total, le sérum et le plasma, ont donné les résultats suivants :

P. total	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Sang total :			
0 gr. 320 0/00	0 gr. 185	0 gr. 025	0 gr. 160
Sérum :			
0 gr. 078 0/00	0 gr. 001	0 gr. 001	0
Plasma :			
0 gr. 066 0/00	0 gr. 004	0 gr. 004	0

6. — Syphilis osseuse

Monsieur S....., 35 ans, atteint d'ostéo-périostite hypérostosante de la jambe gauche. Hypérostoses massives dans la partie diaphysaire provoquant une déformation de l'os.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Sang total	0 gr. 210 0/00	0 gr. 045	0 gr. 165
Sérum	0 gr. 004 0/00	0 gr. 004	0
Plasma	0 gr. 004 0/00	0 gr. 004	0

7. — Ostéoporose

Monsieur D....., 75 ans, en traitement pour fracture du col fémoral après traumatisme de la région trochantérienne.

Calcémie de 0 gr. 035 par litre.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total	0 gr. 180 0/00	0 gr. 01	0 gr. 170
Sérum	0 gr. 01 0/00	0 gr. 01	0
Plasma	0 gr. 015 0/00	0 gr. 015	0

8. — Arthrite suppurée

Monsieur P....., 43 ans, en traitement pour une arthrite suppurée du genou traitée par arthrotomie.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total	0 gr. 182 0/00	0 gr. 042	0 gr. 140
Sérum	0 gr. 037 0/00	0 gr. 037	0
Plasma	0 gr. 024 0/00	0 gr. 024	0

9. — Ostéite tuberculeuse

Monsieur O....., 23 ans, atteint de tuberculose juxta-articulaire localisée à la partie interne de la métaphyse tibiale.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total	0 gr. 200 0/00	0 gr. 040	0 gr. 160
Sérum	0 gr. 035 0/00	0 gr. 035	0
Plasma	0 gr. 037 0/00	0 gr. 038	0

10. — Ostéomyélite

Monsieur T....., 16 ans, en traitement pour ostéomyélite aigüe (staphylocoque doré) de l'extrémité inférieure du fémur.

Température : 38° 5.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Sang total	0 gr. 205 0/00	0 gr. 025	0 gr. 180
Sérum	0 gr. 030 0/00	0 gr. 030	0
Plasma	0 gr. 028 0/00	0 gr. 028	0

11. — Fractures

Premier cas :

Madame D..., 46 ans, en traitement pour une fracture ouverte de la jambe droite.

Fracture des deux os de la jambe avec plaie ayant donné issue à un fragment osseux.

Evolution normale.

Examen du sang pratiqué cinq semaines après la date du traumatisme.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Sang total	0 gr. 208 0/00	0 gr. 182	0 gr. 026
Sérum	0 gr. 091 0/00	0 gr. 091	0
Plasma	0 gr. 187 0/00	0 gr. 187	0

Deuxième cas :

Madame G....., 38 ans, en traitement pour une fracture du grand trochanter et une fracture du poignet remontant à 20 jours.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0 gr. 156 0/00	0 gr. 032	0 gr. 124
Serum.....	0 gr. 043 0/00	0 gr. 043	0
Plasma.....	0 gr. 023 0/00	0 gr. 023	0

Troisième cas :

Monsieur F....., 49 ans, en traitement pour une fracture transversale des 2 os de la jambe. Plâtre.

Prélèvement de sang pratiqué un mois après l'accident.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0 gr. 176 0/00	0 gr. 056	0 gr. 120
Sérum.....	0 gr. 018 0/00	0 gr. 018	0
Plasma.....	0 gr. 013 0/00	0 gr. 013	0

12. — Mal de Pott

Enfant M...., 13 ans, atteint de mal de Pott dorso-lombaire.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0 gr. 198 0/00	0 gr. 045	0 gr. 153
Sérum.....	0 gr. 040 0/00	0 gr. 040	0
Plasma.....	0 gr. 039 0/00	0 gr. 039	0

II. — ETUDE DES ESTERS DANS LE SANG PROVENANT DE MALADES ATTEINTS D'AFFECTIONS VISCÉRALES ET DE MALADIES DE LA NUTRITION.

13. — ICTÈRE PAR RÉTENTION

Monsieur B....., 38 ans, atteint d'ictère par rétention d'origine lithiasique.

Forte présence dans les urines de sels et de pigments biliaires. Sang également riche en éléments biliaires.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total	0 gr. 151 0/00	0 gr. 114	0 gr. 037
Sérum	0 gr. 079 0/00	0 gr. 079	0
Plasma	0 gr. 039 0/00	0 gr. 039	0

14. — ICTÈRE PAR HÉPATITE

Madame S...., 39 ans, atteinte d'ictère toxique due à une intoxication saturnine.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total...	0 gr. 172 0/00	0 gr. 090	0 gr. 082
Sérum	0 gr. 081 0/00	0 gr. 081	0
Plasma	0 gr. 040 0/00	0 gr. 040	0

15. — Ictère hémolytique

Monsieur O....., 40 ans, atteint d'ictère hémolytique. Selles non décolorées ; urines sans pigments, traces de sels biliaires et très riches en urobiline. Grosse rate. Grosse fragilité globulaire. Anémie marquée.

L'examen du sang a été pratiqué avant splénectomie et après splénectomie.

Avant splénectomie :

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total	0 gr. 118 0/00	0 gr. 060	0 gr. 058
Sérum	0 gr. 031 0/00	0 gr. 032	0
Plasma	0 gr. 046 0/00	0 gr. 021	0 gr. 025

Après splénectomie :

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total	0 gr. 190 0/00	0 gr. 137	0 gr. 053
Sérum	0 gr. 070 0/00	0 gr. 068	0 gr. 002
Plasma	0 gr. 059 0/00	0 gr. 048	0 gr. 011

16. — Cancer de rein

Monsieur G....., 42 ans, présentant un gros rein bosselé avec hématuries capricieuses.

Les différents examens pratiqués (cyto-bactériologie des urines, examen cytoscopique, catetherisme, examen pyelographique), montrent qu'il s'agit d'un néoplasme du rein droit.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total	0 gr. 180 0/00	0 gr. 050	0 gr. 130
Sérum	0 gr. 032 0/00	0 gr. 032	0
Plasma.....	0 gr. 028 0/00	0 gr. 028	0

17. — Néphrite aigue

Monsieur O....., 28 ans, atteint de néphrite post-scarlatineuse avec début brusque et fièvre élevée (39°). Urines riches en albumine (3 gr. par litre) avec présence d'éléments cytologiques d'origine rénale (cylindres épithéliaux et granuleux, hématies, cellules rénales). Urée sanguine de 1 gr. 25 0/00.

Premier cas :

	P. total acido-soluble	P. salin	P des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0 gr. 081 0/00	0 gr. 053	0 gr. 028
Sérum	0 gr. 042 0/00	0 gr. 042	0
Plasma.....	0 gr. 024 0/00	0 gr. 024	0

Deuxième cas :

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0 gr. 103 0/00	0 gr. 086	0 gr. 017
Sérum.....	0 gr. 056 0/00	0 gr. 056	0
Plasma.....	0 gr. 037 0/00	0 gr. 037	0

18. — Tuberculose rénale

Madame V....., 45 ans, atteinte de tuberculose rénale bi-latérale confirmée par l'examen bactériologique des urines séparées.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0 gr. 160 0/00	0 gr. 090	0 gr. 070
Sérum.....	0 gr. 082 0/00	0 gr. 082	0
Plasma.....	0 gr. 075 0/00	0 gr. 075	0

19. — Goitre exophtalmique

Mademoiselle T.... , 25 ans, présente une augmentation de volume assez importante de la glande thyroïde avec exophtalmie marquée. Gros amaigrissement. Etat nerveux, tachycardie. Métabolisme basal augmenté : + 100 %.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0 gr. 165 0/00	0 gr. 064	0 gr. 101
Sérum.....	0 gr. 037 0/00	0 gr. 037	0
Plasma.....	0 gr. 031 0/00	0 gr. 031	0

20. — Diabète

Premier cas :

Monsieur G....., 45 ans, diabétique depuis 19 ans, ayant eu plusieurs crises acétonémiques imputables à

un régime alimentaire déséquilibré et à un traitement insulinique très irrégulièrement suivi.

Actuellement, régime alimentaire très équilibré avec 40 unités journalières d'insuline.

Pas de dénutrition. Bon état général.

Au moment où le malade a été envoyé au laboratoire pour un prélèvement de sang, les diverses analyses ont montré :

Urée sanguine	0 gr. 32 0/00
Glucose urinaire	55 gr. 0/00
Glycémie à jeun	2 gr. 58 0/00

Les différents dosages de phosphore pratiqués sur le sang de ce malade ont donné les résultats suivants :

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
Sang total	0 gr. 204 0/00	0 gr. 052	0 gr. 152
Sérum	0 gr. 034 0/00	0 gr. 034	0
Plasma	0 gr. 039 0/00	0 gr. 039	0

Deuxième cas :

Monsieur R.... , 38 ans, diabète à début brusque en juillet 1943. Malade au régime suivant : viande, matières grasses, fromages, fruits secs, légumes verts, 300 grammes de pommes de terre comme seule source importante de glucides.

Traitement journalier de 40 unités d'insuline en deux piqures de 20 unités.

Pas de dénutrition. Bon état général.

Glucose urinaire	89 gr. 25 par 24 heures
Glycémie à jeun et avant insuline	2 gr. 80 0/00
Glycémie après insuline ordinaire et après repas	2 gr. 50 0/00

Les dosages de phosphore pratiqués sur ce sang ont été eux aussi réalisés sur le sang prélevé avant et après insuline.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Avant insuline :			
Sang total	0 gr. 157 0/00	0 gr. 066	0 gr. 091
Sérum	0 gr. 058 0/00	0 gr. 058	0
Plasma	0 gr. 062 0/00	0 gr. 062	0

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Après insuline :			
Sang total	0 gr. 178 0/00	0 gr. 052	0 gr. 126
Sérum	0 gr. 034 0/00	0 gr. 034	0
Plasma	0 gr. 036 0/00	0 gr. 036	0

21. — Tuberculose pulmonaire

Monsieur G....., 20 ans, en traitement pour tuberculose pulmonaire, type primo-infection. Température de 39°.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total	0 gr. 184 0/00	0 gr. 033	0 gr. 150
Sérum	0 gr. 014 0/00	0 gr. 014	0
Plasma	0 gr. 020 0/00	0 gr. 020	0

III. — ETUDE DES ESTERS DANS LES MALADIES DU SANG

22. — Anémie

Monsieur O....., 48 ans, présente un état anémique important caractérisé par :

Globules rouges par mm3.....	1.180.000
Globules blancs par mm3.....	6.600
Hémoglobine %.....	50 %

avec formule leucocytaire :

Polynucléaires neutrophiles.....	58 %
Lymphocytes.....	33 %
Monocytes.....	9 %

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0 gr. 1120/00	0 gr. 056	0 gr. 056
Sérum.....	0 gr. 0290/00	0 gr. 029	0
Plasma.....	0 gr. 0210/00	0 gr. 021	0

23. — Leucémie myéloïde

Madame F....., 42 ans, présente les signes cliniques d'une leucémie myéloïde avec les tests hématologiques suivants :

Globules rouges par mm3.....	3.100.000
Globules blancs par mm3.....	300.000
Polynucléaires neutrophiles.....	25 %
Polynucléaires éosinophiles.....	3 %
Polynucléaires basophiles.....	0
Monocytes.....	8 %
Lymphocytes.....	29 %
Myélocytes neutrophiles.....	35 %

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	gr. 1 200/00	0 gr. 010	0 gr. 110
Sérum.....	gr. 0 300/00	0 gr. 030	0
Plasma.....	0 00 gr. 270/00	0 gr. 027	0

24. — Maladies de Hodgkin

Monsieur M....., 37 ans, atteint de la maladie de Hodgkin, traité par radiothérapie.

Actuellement :

Globules rouges par m3..... 4.240.000
Hémoglobine °/o..... 85 °/o

Apyretique.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0 gr. 1830/00	0 gr. 021	0 gr. 162
Sérum.....	0 gr. 0170/00	0 gr. 017	0
Plasma.....	0 gr. 0160/00	0 gr. 016	0

IV. — ETUDE DES ESTERS DANS LES GROS ACCÈS FÉBRILES.

25. — Accès fébriles

Monsieur O....., 38 ans, gros accès fébrile (40° 5) dû à une crise de paludisme. (Présence d'hématozoaires dans le sang).

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0 gr. 2080/00	0 gr. 028	0 gr. 180
Sérum.....	0 gr. 0150/00	0 gr. 015	0
Plasma.....	0 gr. 0180/00	0 gr. 018	0

V. — ETUDE DES ESTERS DANS LA GROSSESSE

26. — Grossesse

Madame S....., 25 ans. Grossesse de 4 mois et demi.

	P. total acido-soluble	P. salin	P. des esters phosphoriques
	—	—	—
Sang total.....	0 gr. 2100/00	0 gr. 031	0 gr. 179
Sérum.....	0 gr. 0340/00	0 gr. 034	0
Plasma.....	0 gr. 0300/00	0 gr. 030	0

CONCLUSIONS

Résumant les résultats analytiques de cette thèse, il est possible de fixer les points suivants :

I.

Le sang humain total contient des esters phosphoriques à la dose moyenne de 0 gr. 173 par litre, exprimé en P.

Ces esters n'existent pas normalement dans le sérum et le plasma (quelque soit l'anticoagulant utilisé pour obtenir ce dernier).

Les esters sont uniquement contenus dans les éléments figurés et principalement dans les globules rouges. Ils ne diffusent pas hors des globules, même si l'on conserve ceux-ci longtemps en contact avec le sérum et le plasma. Cependant, si au cours de la conservation, il se produit une hémolyse, même légère, on voit aussitôt apparaître des esters dans le sérum ou le plasma.

Le lavage des globules par de l'eau salée isotonique n'enlève pas les esters dont la diffusibilité hors des cellules est remarquablement faible.

II.

Ces esters sont instables, suivant le temps et la température et disparaissent vite dans le sang conservé.

Par transformation enzymatique des esters, il se produit une phosphominéralisation se traduisant par une augmentation du phosphore salin au fur et à mesure que les esters disparaissent.

Il faut donc pratiquer le dosage le plus rapidement possible après le prélèvement de sang.

Cette disparition des esters ne s'observe pas sur le filtrat trichloracétique après précipitation des protéïdes.

Voici, à titre d'exemple, les résultats de dosages effectués sur le filtrat trichloracétique d'un même sang immédiatement et après 8 jours d'étuve à + 37° :

P des osters dosés immédiatement.....	0 gr. 173 0/00
P des esters dosés après 8 jours d'étuve à + 37°.....	0 gr. 171 0/00

Ces deux chiffres très voisins prouvent la stabilité des esters dans le filtrat trichloracétique. Après défécation, l'hydrolyse des esters ne s'effectue plus car l'enzyme est précipité par l'acide trichloracétiique.

III.

L'étude des esters phosphoriques dans les cas pathologiques étudiés montre que :

A. — Les esters n'existent pas anormalement dans le sérum et le plasma.

Cependant, dans le cas d'ictère hémolytique (obs.

n° 15), il a été constaté des esters en quantité notable dans le plasma et très peu dans le sérum. Ceci doit être en rapport avec une fragilité globulaire extrême. Dans le cas du sérum l'hémolyse fut à peu près nulle et l'on ne trouva pas d'esters, mais dans le cas du plasma il y a eu, malgré les précautions, hémolyse et par suite, apparition des esters dans le plasma.

B. — La concentration de ces esters dans le sang total ne dépasse jamais le taux normal.

C. — Dans certaines maladies, la concentration de ces esters dans le sang total descend très bas au dessous de la normale.

Suivant les résultats analytiques obtenus, on peut établir le classement suivant des 26 cas pathologiques étudiés :

a) Les esters sont voisins de la normale dans le cancer osseux (obs. n° 3), la syphilis osseuse (obs. n° 6), l'ostéoporose (obs. n° 7), l'ostéite tuberculeuse (obs. n° 9), l'ostéomyélite (obs. n° 10), le mal de Pott (obs. n° 12), la maladie de Hodgkin (obs. n° 24), les accès fébriles (obs. n° 25), la grossesse (obs. n° 26).

b) Les esters sont très diminués avec une augmentation notable du P salin dans les fractures graves, ouvertes (obs. n° 11), les ictères par rétention et par hépatite (obs. n° 13 et n° 14), la tuberculose rénale (obs. n° 18).

c) Les esters sont diminués avec un phosphore salin voisin de la normale et une diminution du P total acido-soluble dans la maladie de Paget (obs. n° 1), le rachitisme (obs. n° 2), l'ostéomalacie (obs.

n° 4), l'acromégalie (obs. n° 5), l'arthrite suppurée (obs. n° 8), les fractures banales (obs. n° 11), l'ictère hémolytique (obs. n° 15), le cancer du rein (obs. n° 16), la néphrite aigüe (obs. n° 17), le goitre exophtalmique (obs. n° 19), le diabète (obs. n° 20), la tuberculose pulmonaire (obs. n° 21), l'anémie (obs. n° 22), la leucémie myéloïde (obs. n° 23).

Enfin, pour terminer ce travail :

IV.

Une remarque spéciale doit être faite en ce qui concerne le cas de rachitisme étudié. Il faut, en effet, retenir l'action d'une dose unique de vitamine D sur les esters phosphoriques du sang. Dans le cas examiné, il y avait dans le sang avant absorption de vitamine D, 0 gr. 082 d'esters par litre. Après absorption, l'analyse a montré 0 gr. 140 d'esters.

Sous l'action de la vitamine D, on constate donc une augmentation très nette des esters.

Vu : *Le Doyen,*
Pour le Doyen :
L'Assesseur,
Dr LABAT.

Vu, bon à imprimer :
Le Président,
Dr LABAT.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 5 Janvier 1945.
Le Recteur,
A. MARCHAUD.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. — The Journal of Biological Chemistry.
Tome LXII, n° 4, page 339.

2. — Docteur MACHEBŒUF. Thèse de Paris. Faculté de Médecine 1927.

« Recherches sur les composés phosphorés du sang normal ».

3. — Bulletin de la Société de Chimie Biologique.
Tome VIII, n° 5, p. 464, 1926.
Tome IX, n° 1, p. 94, 1927.
Tome IX, n° 6, p. 697, 1927.
Tome IX, n° 6, p. 700, 1927.

4. — C. R. des Laboratoires de Carlsberg.
15e vol., n° 10, 1925. Copenhague.